

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
12. September 2003 (12.09.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/074420 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C09C 1/28, 3/00, C01B 13/32, 33/113

C01B 33/14,

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V. [DE/DE]; Leonrodstrasse 54, 80636 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/02198

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von DE, US): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).

(22) Internationales Anmeldedatum: 4. März 2003 (04.03.2003)

(72) Erfinder; und

(25) Einreichungssprache: Deutsch

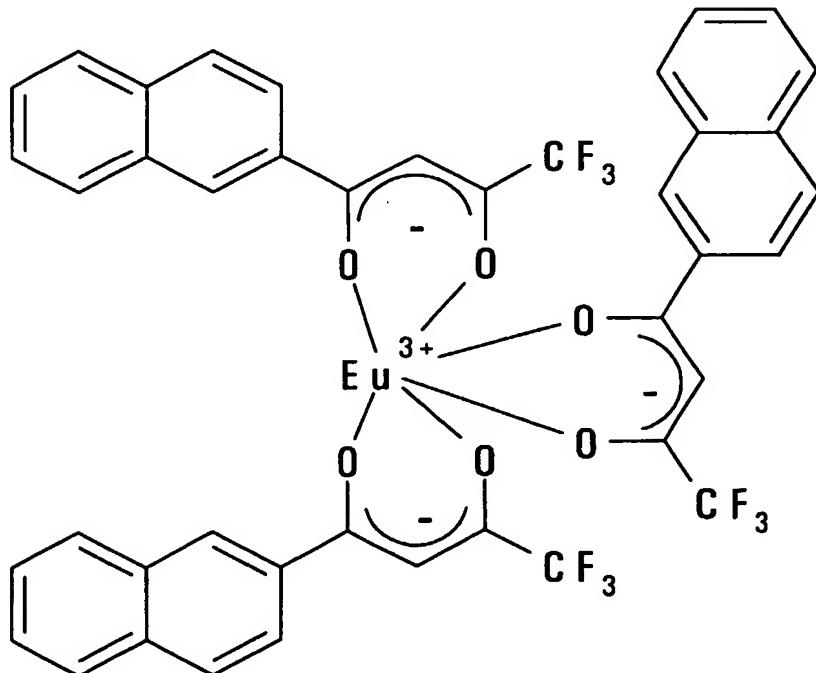
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GEIGER, Albert [DE/DE]; Ahornstrasse 66, 82377 Penzberg (DE). GRIEBEL, Dragan [DE/DE]; Kapuzinerstrasse 7, 97070 Würzburg (DE). HERRMANN, Rupert [DE/DE]; In der Au 23, 82362 Weilheim (DE). KUERZINGER, Konrad [DE/DE]; Alpenstrasse 7 A, 82377 Penzberg (DE).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 102 09 744.5 6. März 2002 (06.03.2002) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MODIFIED OXIDIC NANO-PARTICLE WITH HYDROPHOBIC INCLUSIONS, METHOD FOR THE PRODUCTION AND USE OF SAID PARTICLE



(57) Abstract: The invention relates to a method for producing modified oxidic nano-particles with hydrophobic inclusions, especially metal oxide-particles, which contain target molecules containing halogen. The invention also relates to the produced particle and the use thereof, especially as a toner, a sun protecting agent, insecticide or for marking biomolecules.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung modifizierter oxidischer Nano-Partikel mit hydrophoben Einschlüssen, insbesondere von Metalloxid-Partikeln, welche halogen-haltige Zielmoleküle enthalten, die so hergestellten Partikel und deren Verwendung, insbesondere als Toner, als Sonnenschutzmittel, als Insektizide oder zur Markierung von Biomolekülen.

WO 03/074420 A1



(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

## Modifizierte oxidische Nano-Partikel mit hydrophoben Einschlüssen, Verfahren zu ihrer Herstellung und Verwendung dieser Partikel

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung modifizierter metall-oxidischer Nano-Partikel mit hydrophoben Einschlüssen, insbesondere von Metalloxid-Partikeln, welche halogen-haltige Zielmoleküle enthalten, die so hergestellten Partikel und deren Verwendung, insbesondere als Toner, als Sonnenschutzmittel, als Insektizide oder zur Markierung von Biomolekülen.

Latexpartikel sind hydrophob und als Host für hydrophobe Moleküle sehr geeignet und im Einsatz, Kawaguchi, H., Prog. Polym. Sci. 25 (2000) 1171-1210. Organische in Wasser dispergierte Nano-Partikel finden zwar in der Pharmazie, in der Kosmetik, im Pflanzenschutz und in der Ernährung immer mehr Anwendung, jedoch sind beispielsweise Lösungsmittelreste noch vorhanden, die sich auf die jeweiligen Anwendungen nachteilig auswirken können. Zu dieser Problematik finden z.Z. intensive Forschungen statt, Horn, D., and Rieger, J., Angew. Chem. 113 (2001) 4460-4492.

Da die Metalloxid-Partikel auf nasschemischen Weg in einem Wasser-Ethanol-gemisch synthetisiert werden, enthalten sie naturgemäß keine störenden Tenside, Stabilisatoren, usw. Zusätzlich ist eine multifunktionelle Oberfläche vorhanden, die je nach Anforderung modifiziert werden kann – sei es beispielsweise mit Carboxyl-funktionalitäten (als Biolinker) oder Fluororganylgruppen (zur Beeinflussung der physikalisch-chemischen Oberflächeneigenschaften). Metalloxid-Partikel sind naturgemäß hydrophil und eignen sich daher nicht als Host für hydrophobe Moleküle.

Nano-Partikel auf Silikatbasis, welche mit hydrophilen Farbstoffen gefärbt sind, sind im Stand der Technik seit langem bekannt. Sie werden in Form von Pigmenten beispielsweise als Färbemittel für Toner und Tinten, für Plastikmaterialien und auch als Markierungs- und Trägermaterialien im medizinisch-technischen Bereich eingesetzt.

Großtechnisch werden Silikatpartikel meist durch Flammenhydrolyse (z.B. Aerosil®) hergestellt. Solchermaßen gewonnene Silikatpartikel können an ihrer Oberfläche oder schichtweise gefärbt werden.

In US 5,102,763 wird die Verwendung von hydrophilen, gefärbten SiO<sub>2</sub>-Partikeln für den Einsatz als Toner beschrieben. Diese Partikel werden durch Umsetzung von voraktivierten Silikatpartikeln mit diversen Farbstoffen an der Oberfläche kovalent gefärbt.

5 In der WO 93/10190 wird die Herstellung von gefärbten Partikeln durch eine kovalente Anbindung eines Farbstoffes an die Oberfläche von Partikeln beschrieben.

Die nur an der Oberfläche gefärbten Silikat-Partikel neigen dazu, durch Abbluten Farbe zu verlieren. Dadurch verringert sich die Farbintensität und diese Partikel sind 10 oft auch nicht mehr gleichmäßig gefärbt. Die Anwendung dieser Partikel für die Herstellung von Konjugaten, die für die Diagnostik geeignet sind, wird nicht beschrieben.

15 Im US-Patent 5,209,998 wird ein Verfahren zur Herstellung von gefärbten Partikeln mit einer Silikatoberfläche beschrieben. Das Herstellverfahren basiert auf dem Beschichten farbiger Pigmente mit einer Silikat-Hülle. Diese Partikel sind also nur in ihrem Kern gefärbt. Als Anwendung wird der Einsatz der Partikel in elektrostatischen Tonern, Plastikmaterialien und Tinten beschrieben; eine diagnostische Anwendung wird nicht offenbart.

20 Ein Verfahren zur Herstellung monodisperser Silikatpartikel, d.h. Silikatpartikeln, die von einheitlicher Größe sind, ist das Sol-Gel-Verfahren. Es wurde erstmals von Stöber, et al. beschrieben (Colloid J. Interface Sci. 26 (1968) 62-69). Die Herstellung der sogenannten Stöber-Partikel und ihre Eigenschaften wurden in der Folgezeit durch eine Vielzahl von Arbeitsgruppen eingehend untersucht. Hierzu gehören die 25 Festlegung der Synthesebedingungen zum Erhalt bestimmter Partikelgrößen (Van Helden, et al, Colloid J. Interface Sci. 81 (1981) 354-68, Giesche, H., J. European Ceramic Soc. 14 (1994) 189-204, Van Blaaderen, A., and Vrij, A., Adv. Chem. Ser. 234 (1994) 83-111) sowie Untersuchungen zum Partikelwachstum und der chemischen Zusammensetzung (Byers, C. H., et al., Ind. Eng. Chem. Res. 26 (1987) 1916-30 1923; Matsoukas, T., and Gouliari, E., Colloid J. Interface Sci. 124 (1988) 252-261; Harris, T., et al., J. Non-Cryst. Solids 121 (1990) 307-403; Matsoukas, T., and Gouliari, E., Colloid J. Interface Sci. 132 (1989) 13-21; Badley, R.D., et al., Langmuir 6 (1990) 792-801).

Für die Dotierung von Silikatpartikeln aus dem Sol-Gel-Verfahren mit Farbstoffen sind im Stand der Technik unterschiedliche Möglichkeiten beschrieben.

Van Blaaderen, et al., Langmuir 8 (1992) 2921-2931, sowie Quillet, et al., Colloid J. Interf. Sci. 159 (1993) 150-7 stellten Stöber-Partikel her, die mit Fluorescein-5 isothiocyanat oder Rhodaminisothiocyanat (Verhaegh, and Van Blaaderen, A., Langmuir 10 (1994) 1427-1438) gefärbt wurden. Die Farbstoffe wurden zuvor mit 3-Aminopropyltriethoxysilan (AMEO) umgesetzt. Der Farbstoff wurde hier kovalent oberflächlich aufgebracht oder kovalent und schichtförmig in die Partikel eingebaut. Die so erzielte inhomogene Einfärbung spielte in diesen Untersuchungen eine untergeordnete Rolle und das Verfahren führte in der Regel zu relativ großen Partikeln im Größenbereich von etwa 500 nm Durchmesser. Die erhaltenen Partikel wurden als Modellsysteme für die Grundlagenforschung verwendet. Aufgrund der hohen Partikelgröße sind die solchermaßen hergestellten Silikatpartikel für diagnostische Anwendungen weniger geeignet.

15 Shibata, S., et al., J. Sol-Gel Sci. and Techn. 10 (1997) 263-268 dotierten Stöber-Partikel physikalisch mit diversen hydrophilen Farbstoffen wie Rhodamin 6G, wasserlöslichen Porphyrinen, Nil Blau, etc.. Von Schwert, R., Dissertation; Würzburg 2000 wurde gefunden, dass sich nur kationische nicht aber anionische oder hydrophobe Farbstoffe physikalisch (nicht-kovalent) im Stöber-Prozess einbauen lassen.

20 Von Matijevic, et al., Dyes and Pigments 17 (1991) 323-340 wurden auf der Oberfläche mit 3-Aminopropyl-triethoxysilanen modifizierte Stöber-Partikel vorgestellt, welche über die Aminogruppe mit Farbstoffen in einem aufwendigen Verfahren verbunden wurden. Stöber-Partikel wurden auch auf verschiedene andere Arten an der Oberfläche modifiziert. Hierzu gehören Reaktionen mit 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan (MEMO), Octadecyltrimethoxysilan (ODS) und 3-Amino-25 propyltriethoxysilan (AMEO) (Giesche, H., and Matijevic, E., Dyes and Pigments 17 (1991) 323-340; Van Blaaderen, A., and Vrij, A., Colloid J. Interface Sci., 156 (1993) 1-18; Badley, R.D., et al., Langmuir 6 (1990) 792-801; Philipse, A.P., and Vrij, A., Colloid J. Interface Sci. 12 (1989) 121-136; Van Helden, A.K., and Vrij, A., Colloid J. Interface Sci. 81 (1981) 354-368).

Homogen gefärbte Silikatpartikel können durch kovalenten Farbstoffeinbau im Sol-Gel-Verfahren hergestellt werden (EP 1 036 763). Um in diesem Verfahren eingesetzt werden zu können, müssen die Farbstoffe jedoch erst silanisiert werden. Nur so ist ein kovalenter Einbau möglich.

5 Viele wichtige Zielmoleküle, für den Einbau in Nano-Partikel, insbesondere viele Farbstoffe tragen Halogengruppen als Substituenten. Diese Farbstoffe sind nicht nur hydrophob sondern auch oleophob.

10 Fluorhaltige Beschichtungen auf  $\text{SiO}_2$ -Basis sind bekannt (Lotus-Effekt, Easy to clean Oberflächen, Brechzahlanpassung – Kron J., et al., 2. Wörlitzer Workshop: Funktionelle Schichten – Adhäsive und antiadhäsive Oberflächen (Fördergemeinschaft „Dünne Schichten“ e.V.), Tagungsband 2000. Aufgrund des schnellen Ver- gelens bei der Partikelherstellung mit Fluoralkyltrialkoxysilanen sind jedoch noch 15 keine fluorhaltigen Silikatpartikel synthetisiert worden. Diese wären jedoch wünschenswert damit hydrophobe und insbesondere auch oleophobe Moleküle auch in  $\text{SiO}_2$ -Partikel eingeschlossen werden können.

Deshalb war es Ziel der Erfindung, den Herstellungsprozess für Metallocid-Partikel so zu modifizieren, dass hydrophobe Komplexe oder hydrophobe organische Farbstoffe, beispielsweise in  $\text{SiO}_2$ -Partikel eingebunden werden können.

20 Aufgabe war es daher, ein Verfahren zu entwickeln, welches den Einbau von hydrophoben und insbesondere oleophoben Farbstoffen in Metallocid-Partikeln ermöglicht.

Die Aufgabe wird gelöst durch die in den unabhängigen Ansprüchen näher definierte Erfindung. Die abhängigen Ansprüche stellen bevorzugte Ausführungsformen dar.

25 Es wurde überraschenderweise gefunden, dass es möglich ist, Metallocidpartikel im Sol-Gel-Verfahren in Anwesenheit von Fluororganylalkoxysilan oder von Arylalkoxysilan herzustellen und bei diesem Herstellungsprozess hydrophobe insbesondere oleophobe Zielmoleküle nicht-kovalent in diese Nano-Partikel einzubauen.

5 Die Erfindung betrifft Sol-Gel-Verfahren zur Herstellung eines mindestens ein halogen-haltiges Zielmolekül enthaltenden Metallocid-Partikels, in welchem ausgehend von bekannten Metallocid-Vorstufen, besagte Vorstufe und besagtes Zielmolekül eingesetzt werden dadurch gekennzeichnet, dass in besagtem Sol-Gel-Verfahren zusätzlich eine polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung, insbesondere Alkylalkoxysilan eingesetzt wird.

10 Unter „Sol-Gel-Verfahren“ wird jeder Prozess verstanden, welcher in Analogie zu den von Stöber, et al. (1968), *supra*, beschriebenen Verfahren zur Herstellung kolloider Nano-Partikel eingesetzt werden kann. Die Produkte aus diesem Verfahren werden als Stöber-Partikel oder Nano-Partikel bezeichnet.

15 Die Erfindung betrifft die nicht-kovalente Einlagerung „halogen-haltiger Zielmoleküle“ in Metallocid-Partikel. Die Zielmoleküle im Sinne dieser Erfindung bestehen zu 5 – 65 Gewichtsprozent (= Gew.-%) aus Halogen und haben vorzugsweise ein Molekulargewicht zwischen 250 und 5000 Dalton. Zielmoleküle sind insbesondere halogen-haltige Farbstoffe und halogen-haltige Insektizide.

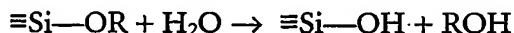
Das halogen-haltige Zielmolekül ist nicht silanisiert. Die Einlagerung in die Stöber-Partikel erfolgt somit nicht kovalent.

20 Das erfindungsgemäße Verfahren ist insbesondere dadurch gekennzeichnet, dass es erstmals gelungen ist, Stöber-Partikel in Anwesenheit einer „polyhalogenierten Metallalkylalkoxy-Verbindung“ herzustellen. Das Verfahren kann in An- oder Abwesenheit eines Zielmoleküls durchgeführt werden. Eine polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung enthält einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit 2 bis 20 Kohlenstoffatomen, welcher mindestens zwei Halogengruppen trägt. Bevorzugterweise enthält der polyhalogenierte Alkylrest weniger als 30 Halogengruppen. Besonders bevorzugte polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindungen enthalten Alkylreste mit 3 bis 20 Kohlenstoffatomen und 2 bis 15 Halogengruppen. Besonders bevorzugt sind Metallalkylalkoxy-Verbindungen auf Basis von Silicium, Titan oder Zirkonium, insbesondere die Alkylalkoxysilane.

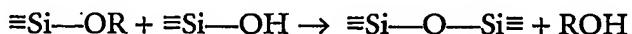
30 Als „Metallocid-Vorstufen“ werden in der Regel Metallalkoxide oder Metallhalogenide eingesetzt. Bevorzugte Metallalkoxide sind die Silicium-Metallocide, insbesondere Tetraethoxysilan (TEOS) und Tetramethoxysilan (TMES).

Beim ursprünglichen Stöber-Prozess mit  $\text{SiO}_2$  als Metalloxid werden die  $\text{SiO}_2$ -Partikel durch Hydrolyse und Kondensation eines Siliciumalkoxides, meistens Tetraethoxysilan (TEOS), hergestellt. Die Reaktion findet in einem Gemisch aus Wasser, Ammoniak und einem niederen Alkohol, oft Ethanol, statt. Die Hauptreaktionen bei der Bildung der  $\text{SiO}_2$ -Partikel lassen sich wie folgt beschreiben:

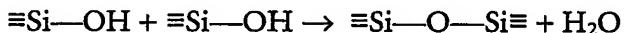
5 1) Hydrolyse



10 2) Kondensation I



3) Kondensation II



4) Gesamtreaktion



Bei der Synthese werden Alkohol, Wasser und Ammoniak vorgelegt und anschließend mit TEOS versetzt. Je nach Synthesebedingungen tritt nach wenigen Sekunden bis Minuten eine Opaleszenz der Lösung ein. Diese Induktionsperiode nimmt mit abnehmender Partikelgröße und Temperatur zu. Die erhaltenen Partikel haben in ihrer Größe eine Standardabweichung von 2-8%. Der Alkohol dient während der Reaktion als Cosolvans für das wasserunlösliche TEOS. Durch den Ammoniak werden sowohl die Hydrolyse- als auch die Kondensationsreaktion katalysiert. Die Base deprotoniert die oberflächlichen Silanolgruppen der ausgebildeten Partikel. Die so erzeugten negativen Ladungen stabilisieren das kolloidale System infolge der elektrostatischen Abstoßung. So bleiben die Suspensionen über mehrere Monate bis Jahre hinweg stabil. Gleichzeitig ermöglichen die vorhandenen Silanolgruppen eine Funktionalisierung der Partikeloberfläche (In der Literatur sind hierzu bereits diverse Beispiele aufgeführt (z.B. AMEO, ETEO, MEMO,

MPTMO, GLYMO, GF20). Durch geeignete Oberflächenmodifizierung kann die Dispergierbarkeit in verschiedenen Lösungsmitteln variiert werden.

5

Die Partikelgröße lässt sich durch die Ammoniak- und Wasserkonzentration, die Reaktionstemperatur und das eingesetzte Lösungsmittel steuern. Folgende Tendenzen sind zu erkennen:

10

- 1) Sowohl die Erhöhung der Ammoniak- als auch die der Wasserkonzentration beschleunigt die Reaktion und lässt die Partikelgröße steigen.
- 2) Mit steigender Kettenlänge des Alkohols und dessen Verzweigungsgrades nimmt die Partikelgröße zu und die Monodispersität ab.
- 3) Die Partikelgröße nimmt zu, je länger die Alkoxidreste des Silanes sind. Die Ionenstärke der Reaktionslösung (Salzeffekt) vermag ebenfalls die Partikelgröße infolge der Komprimierung der elektrostatischen Doppelschicht zu beeinflussen.
- 4) Übersteigt die TEOS-Konzentration 0,2 mol/l, werden die Partikel polydisperser und die Sphärität der Partikel verschlechtert sich.

15

Die aus dem ursprünglichen Stöber-Prozess vorstehend diskutierten Einflüsse auf die Partikelbildung gelten analog auch für ein erfindungsgemäßes Verfahren in welchem zusätzlich eine polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung eingesetzt wird, um z.B. ein halogen-haltiges Zielmolekül in die gemäß diesem Verfahren erhältlichen Stöber-Partikel einzulagern.

20 Das erfindungsgemäße Verfahren kann beispielsweise ausgeführt werden, indem unter dem Fachmann bekannten geeigneten Reaktionsbedingungen die Komponenten Metallocid-Vorstufe, halogenhaltiger Farbstoff und polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung zeitgleich zur Reaktion gebracht werden.

25

Vorzugsweise werden das halogen-haltige Zielmolekül und die polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung vorab in einen geeigneten Lösungsmittel gelöst, gemischt und gemeinsam zugegeben.

5 Besonders bevorzugt ist ein Sol-Gel-Verfahren zur Herstellung eines mindestens ein halogen-haltiges Zielmolekül enthaltenden Metalloxid-Partikels enthaltend die Stufen, a) Herstellung einer Mischung enthaltend das Zielmolekül und eine polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung, b) Start des Sol-Gel-Prozesses mit der Metalloxid-Vorstufe, c) Zugabe der Lösung aus a), d) optional weitere Zugabe der Metalloxid-Vorstufe und e) Beendigung des Sol-Gel-Prozesses.

10 10 Die Mengenverhältnisse der Metalloxid-Vorstufe, wie sie in den obigen Teilschritten b) und d) zum Einsatz kommen, können breit variieren. Bevorzugterweise werden in Schritt b) zwischen 90 bis 10% der insgesamt im Verfahren eingesetzten Menge an Metalloxid-Vorstufe eingesetzt und in Schritt d) entsprechend die restlichen 10 bis 90%. Besonders bevorzugt liegen die eingesetzten Teilmengen in b) bei 75 bis 25% und in d) bei 25 bis 75%.

15 Auch die Zeitdauer für den Start des Sol-Gel-Prozesses in Schritt b) ist variabel. Sie liegt bevorzugterweise unter 1h, weiter bevorzugt zwischen 1 und 20 min besonders bevorzugt zwischen 2 und 10 min.

20 20 Als besonders geeignet hat es sich erwiesen, die Mol-Verhältnisse von Metalloxid-Vorstufe und polyhalogenierter Metallalkylalkoxy-Verbindung aufeinander abzustimmen. Bevorzugterweise werden 0,04 bis 0,4 Mol-% an polyhalogenierter Metallalkylalkoxy-Verbindung, besonders bevorzugt 0,1 bis 0,3 Mol-% bezogen auf die Metalloxid-Vorstufe eingesetzt.

25 Die halogen-haltigen Zielmoleküle enthalten bevorzugterweise zwischen 10 und 65, besonders bevorzugt zwischen 15 und 50 Gew.-% an Halogen, wobei das Molekulargewicht vorzugsweise zwischen 250 und 5000 Dalton, weiter bevorzugt zwischen 300 und 4000 Dalton und besonders bevorzugt zwischen 400 und 3000 Dalton liegt.

30 25 Bevorzugte Halogene in den halogen-haltigen Zielmolekülen sind Fluor und Chlor.

30 Die Menge an eingesetztem Zielmolekül kann je nach Bedarf variieren. Es können natürlich auch Partikel hergestellt werden, welche kein oder nur minimale Mengen an Zielmolekül enthalten. Bevorzugterweise werden bezogen auf die Metalloxid-Vorstufe zwischen 0,1 und 10 Gew.-% an Zielmolekül eingesetzt, besonders bevorzugt, zwischen 0,2 und 5 Gew.-%.

5 Als Metalloxide oder als Komponenten von Mischoxiden kommen insbesondere die Oxide der Elemente aus den Gruppen III, IV und IVb des Perioden-Systems in Betracht. Bevorzugterweise wird die Metalloid-Vorstufe so gewählt, dass die Stöber-Partikel neben den Einschlüssen des Zielmoleküls und dem kovalent eingebauten polyhalogenierten Metallalkyl im Wesentlichen aus  $B_2O_3$ ,  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $SnO_2$ ,  $ZrO_2$  oder  $TiO_2$  besteht.

Natürlich können auch Partikel auf Mischoxidbasis in analoger Weise im erfundungsgemäßen Sol-Gel-Verfahren hergestellt werden.

10 Besonders bevorzugt werden Metalloid-Vorstufen auf Bor-, Silicium- oder Zirkonium-Basis eingesetzt, wobei Silicium-Vorstufen ganz besonders bevorzugt sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind auch die mit einem erfundungsgemäßen Verfahren erhältlichen Partikel als solche.

15 Insbesondere sind dies Partikel, welche erhalten wurden durch Hydrolyse und Kondensation von Sol-Gel-Vorstufen von Elementen der Gruppen III, IV, IVb, vorzugsweise Si (Ti, Zr, Al) in Kombination mit hydrophoben Sol-Gel-Vorstufen, wie beispielsweise perfluorierte Alkyltrialkoxysilane (z.B. 3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilan) oder Bis(triakoxysilylalkyl)benzole (z.B. Bis(trimethoxysilylethyl)benzol). Bevorzugterweise enthalten diese Partikel die oben geschilderten Zielmoleküle.

20 Durch die hydrophobe (fluorierte) Umgebung, wie sie in den erfundungsgemäß hergestellten Metalloid-Partikeln vorliegt, zeigen beispielsweise Fluorophore nicht die sonst üblichen negativen Einwirkungen von Wasser, d.h., es tritt kein Quenching, welches auf Wasser zurückzuführen ist, auf.

25 Durch die erfundungsgemäße Modifizierung des Partikelinnern ist es möglich, neben Lanthanoid-Komplexen sowohl andere hydrophobe (z.B. LC Red 640) als auch oleophobe Moleküle/Komplexe in die ursprünglich hochpolare oxidische Matrix einzubringen. Die Partikeloberfläche kann nach Bedarf beispielsweise mit Carboxyl-, Amino-, Mercapto-, Epoxy-, und Aldehydgruppen funktionalisiert werden. Dies kann u.a. durch Silanisierung erfolgen. Die Partikelgröße kann mit enger 30 Größenverteilung vom Nano- Mikrometerbereich eingestellt werden.

Der Partikel-Typ (vergl. Fig. 1) ist nicht entscheidend. Bevorzugterweise bestehen die Partikel aus einem anorganisch-oxidischen Kern. Dieser Kern kann homogen (Typ 1) oder heterogen (Kern-Schale-Typ (2) oder Rosinenkuchen-Modell (3)) aufgebaut sein.

5 Die erfindungsgemäßen, mit einem halogen-haltigen Zielmolekül beladenen Stöber-Partikel, lassen sich in unterschiedlichen Gebieten der Technik sehr vorteilhaft einsetzen. Sie eignen sich insbesondere als Markierungen für Biomoleküle und daraus resultierend für den Einsatz der markierten Biomoleküle in immunologischen und anderen Nachweisverfahren, als Toner in der Druckindustrie, als Sonnenenschutzmittel und als Insektizide. Auch die Einarbeitung in eine beliebige Polymermatrix ist möglich (z.B. Ormocer®). Die Verwendungen als Markierung für Biomoleküle oder als Insektizid sind besonders bevorzugt.

10

15 Die erfindungsgemäßen Metallocid-Partikel können nachträglich modifiziert werden. So können die Partikel beispielsweise mit einer oder mehreren weiteren, bevorzugt farblosen Schichten ummantelt werden, um den Partikel chemisch zu schützen. Zweck dieser Ummantelung ist es, eine möglichst gleichmäßige Metallocidoberfläche, z.B. eine silikatartige Oberfläche zu erhalten, aus der keine Farbstoffmoleküle mehr herausragen. Somit werden weitere Kopplungen mit funktionellen Gruppen und Biomolekülen erleichtert und die Gefahr der Nebenreaktionen 20 mit Farbstoffmolekülen an der Oberfläche wird minimiert. Bevorzugt wird eine weitere ungefärbte Silikatschicht um den homogen gefärbten Silikatpartikel mit einer Dicke von 1 bis 30 nm, bevorzugt 2 bis 20 nm aufgebracht.

25 Die erfindungsgemäßen Metallocid-Partikel können entweder direkt oder an der Oberfläche der zusätzlichen Ummantelungsschicht mit funktionellen Gruppen versehen werden, um weitere Moleküle, erfindungsgemäß bevorzugt Biomoleküle, an die Partikel zu koppeln.

30 Die funktionellen Gruppen können wiederum über Spacer- oder Linkermoleküle auf den Partikeln aufgebracht sein. Wichtig ist, dass die einzuführende funktionelle Gruppe im Netzwerk des Metallocid-Partikels verankert ist, um eine stabile Verbindung zu gewährleisten.

Bevorzugte Modifikationsgruppen sind funktionelle Gruppen wie beispielsweise Carboxylgruppen, Aminogruppen, Epoxygruppen, Hydroxylgruppen oder Thiolgruppen. Dem Fachmann ist die Einführung solcher Gruppen geläufig. Sie braucht daher hier nicht gesondert erläutert zu werden.

5 Bevorzugt ist die Einführung von Carboxylgruppen, die beispielsweise durch Umsetzung des gefärbten Metalloxid-Partikels mit einem Disäureanhydrid, das die besagte Silanolgruppe zur Verankerung im Partikel enthält, erfolgt. Zur Aktivierung der funktionellen Gruppen können diese vor Reaktion mit den zu koppelnden Biomolekülen beispielsweise mit N-Hydroxysuccinimid in Aktivester überführt  
10 werden. All diese Schritte sind dem Fachmann geläufig.

Die erfindungsgemäßen Konjugate bestehen aus mit einem halogen-haltigen Farbstoff beladenen Metalloxid-Partikeln und Biomolekülen. Die Kopplung der Biomoleküle erfolgt bevorzugt über die funktionellen Gruppen, die an der Oberfläche eingeführt wurden. Im allgemeinen erfolgt die Anknüpfung der Biomoleküle an die  
15 Oberfläche des Partikels über freie Amino- oder Carboxylgruppen oder Thiolgruppen, so dass die kovalente Verknüpfung bevorzugt über Amid- oder Thioetherbindungen erfolgt.

Unter Biomolekülen im Sinne der vorliegenden Erfindung werden alle Moleküle verstanden, die für eine Bestimmung eines Analyten in einer Probe, insbesondere  
20 für eine immunologische Bestimmung eines Analyten verwendet werden können. Unter den Begriff Biomoleküle fallen beispielsweise Proteine, Glykoproteine, Peptide, Nukleinsäuren, peptidische Nukleinsäuren, Saccharide, Hormone, Haptene, Vitamine, natürlich vorkommende oder künstlich hergestellte Bindepartner und Antigene. Bevorzugt werden als Biomoleküle im erfindungsgemäßen Konjugat  
25 Antikörper und deren Fragmente eingesetzt. Unter Antikörpern werden sowohl monoklonale als auch polyklonale und chimäre Antikörper und jeweils deren Fragmente wie beispielsweise Fab, Fc, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv verstanden. Auch die Kopplung mit den Biomolekülen Streptavidin oder Avidin oder Biotin gehört zu einer der bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung.

30 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Konjugate aus den erfindungsgemäßen Metalloxid-Partikeln und Biomolekülen. Diese erfindungsgemäßen Konjugate werden vorzugsweise in ein Verfahren zum Nachweis eines Analyten in einer Probe

durch Zusammenbringen der Probe mit einem oder mehreren analytspezifischen Bindepartnern eingesetzt.

Das Verfahren zum Nachweis eines Analyten wird bevorzugt als Immunoassay durchgeführt. Das heißt, dass mindestens einer der analytspezifischen Bindepartner 5 ein immunologischer Bindepartner ist. In diesem Verfahren wird die Probe, in der der Analyt vermutlich enthalten ist, mit einem immunologisch spezifischen Bindepartner inkubiert. Dieser immunologisch spezifische Bindepartner ist im Falle eines Antigen-Nachweises wie beispielsweise bei Tumormarkern wie PSA ein Antikörper 10 oder ein Fragment davon, das spezifisch an den Analyten, das heißt das Tumorantigen PSA bindet. Bei Verfahren zum Nachweis von Antikörpern gegen ein bestimmtes Antigen (z.B. Anti-HCV-Antikörper) kann beispielsweise als immunologisch spezifischer Bindepartner das entsprechende Antigen eingesetzt werden. Der Nachweis der erfolgten spezifischen Bindung erfolgt über das erfindungsgemäße 15 Konjugat, dessen eingebauter Farbstoff als Markierung dient. Die auf den Metall-oxid-Partikeln immobilisierten Biomoleküle fungieren als spezifische Bindepartner für den Analyten oder als spezifische Bindepartner für eine Substanz, die ihrerseits spezifisch an den Analyten gebunden ist.

Beispielsweise kann in einem diagnostischen Testverfahren als Biomolekül Streptavidin oder Avidin mit dem Metalloxid-Partikel konjugiert sein. Die Bindung des Konjugats erfolgt dann an die Biotingruppe eines Moleküls (beispielsweise ein Peptidantigen oder eine Nukleinsäuresequenz), das selbst biotinyliert ist. 20

Die Durchführung von Immunoassays sowie von Nukleinsäuretests ist dem Fachmann geläufig.

Bevorzugterweise werden die erfindungsgemäßen Konjugate in einen Test auf Basis 25 eines Teststreifen eingesetzt. Im folgenden ist beispielhaft beschrieben, wie ein Streifentest aufgebaut sein kann und wie ein solches Testverfahren abläuft.

Teststreifen bestehen üblicherweise aus einem Trägermaterial, auf das ein Auftragvlies, eine Membran und ein Saugvlies aufgebracht sind. In Chromatographierichtung aufwärts, also über dem Startpunkt der Probenflüssigkeit, ist das erfindungsgemäße Konjugat, dessen Biomoleküle spezifisch für den Analyten sind, und 30 gegebenenfalls weitere spezifische Bindepartner für den Analyten aufgebracht und

5 getrocknet. Erst durch Kontakt mit einer Flüssigkeit, d.h. mit der Probe, beginnen die spezifischen Bindepartner und das erfindungsgemäße Konjugat chromatographisch zu wandern. In Chromatographierichtung sind auf der Membran außerdem in Form von zwei nacheinander folgenden Streifen oder Strichen verschiedene Proteine aufgebracht.

10 Auf dem ersten Strich (Resultatlinie) befindet sich ein immobilisierter Bindepartner, der für den Analyten spezifisch ist. Auf dem ersten Strich kann auch ein Molekül wie Streptavidin gebunden sein, an das dann biotinylierte, analytpezifische Bindepartner binden können. In diesem Fall müssen dann die biotinylierten, analytpezifischen Bindepartner ebenso wie das Konjugat über dem Startpunkt des Teststreifens aufgebracht sein und mit der Probe mit chromatographiert werden. Auf dem zweiten Strich in Chromatographierichtung (Kontroll-Linie) ist ein Bindepartner aufgebracht, der die Biomoleküle des erfindungsgemäßen Konjugats spezifisch bindet.

15 Während die Probenflüssigkeit vom Startpunkt des Teststreifens durch den Streifen wandert, beginnen das erfindungsgemäße Konjugat und gegebenenfalls die analytpezifischen Bindepartner ebenfalls in Richtung Flüssigkeitsfront zu wandern. Dabei findet die spezifische Bindung von Analyt aus der Probe an den auf dem ersten Strich immobilisierten Bindepartner statt. Das erfindungsgemäße Konjugat bindet ebenfalls an den Analyten, so dass ein Sandwich entsteht, der über die Färbung der Metalloxid-Partikel detektiert werden kann. Die Flüssigkeit im Teststreifen läuft bis zum Ende des Teststreifens weiter. Dabei wird auf dem zweiten Strich das nicht durch Analytbindung verbrauchte erfindungsgemäße Konjugat über den Bindepartner, der spezifisch die Biomoleküle des Konjugats bindet, abgefangen. Anhand der am Kontroll-Strich auftretenden Färbung kann gesehen werden, dass die Chromatographie im Teststreifens prinzipiell funktioniert hat und/oder abgeschlossen ist.

20 25 30 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein diagnostischer Teststreifen, der neben dem erfindungsgemäßen Konjugat alle weiteren für den Ablauf des chromatographischen Tests erforderlichen Bestandteile enthält.

35 Erfindungsgemäß können die Konjugate auch in Nukleinsäure-Hybridisierungsassays eingesetzt werden. Hier wird als Biomolekül eine Nukleinsäuresonde, die

spezifisch mit einer nachzuweisenden Nukleinsäuresequenz hybridisiert, mit den erfindungsgemäß gefärbten Metallocid-Partikeln gekoppelt. Über den im Metallocid-Partikel enthaltenen Farbstoff kann die Nukleinsäuresequenz aus der Probe oder aus dem beispielsweise mittels PCR-Amplifizierung erhaltenen Ansatz spezifisch detektiert werden.

Erfindungsgemäß können die Konjugate aus den erfindungsgemäßen Metallocid-Partikeln und einem Biomolekül auch in Array- oder Chip-Systemen eingesetzt werden. Bei solchen Systemen handelt es sich um miniaturisierte Testkonzepte. Auf die Oberfläche geeigneter Festphasen, wie beispielsweise Kunststoffe, Glas, Metalle oder Metallocide, werden in kleinsten Abständen, die im Mikrometer-Bereich liegen, räumlich voneinander getrennte Reagenzienspots aufgebracht. Diese Reagenzienspots enthalten die für die Durchführung des jeweiligen Nachweisverfahrens benötigten spezifischen Bindepartner. Mit Hilfe solcher Nachweisverfahren ist es möglich, mit wenig Material und wenig Probe auf kleinstem Raum eine Vielzahl verschiedener analytischer Parameter gleichzeitig auf schnelle Art nachzuweisen. Die erfindungsgemäßen Konjugate aus mit halogen-haltigen Farbstoffen gefärbten Metallocid-Partikeln und Biomolekülen können auch in diesen Array- oder Chipsystemen als Nachweisreagenzien eingesetzt werden. Als Farbstoffe, mit denen die Metallocid-Partikel gefärbt sind, kommen bevorzugt Fluoreszenzfarbstoffe, insbesondere solche, welche eine zeitaufgelöste Messung der Fluoreszenz ermöglichen, in Betracht. Insbesondere ist es möglich, mittels der erfindungsgemäßen Konjugate unterschiedlich gefärbte und/oder unterschiedliche, mit verschiedenen Biomolekülen beladene Konjugate einzusetzen, um gleichzeitig verschiedene Analyten über die verschiedenen (Fluoreszenz-) Farbstoffe nachzuweisen. Insbesondere für Nukleinsäure-Hybridisierungsassays haben sich solche Array-Systeme als vorteilhaft erwiesen.

Der gleichzeitige Nachweis mehrerer verschiedener Analyten (beispielsweise HIV- und HCV-spezifische Nukleinsäuren in einer Probe oder HIV- und HCV-spezifische Antikörper in einer Probe) mittels der erfindungsgemäßen Konjugate, die jeweils unterschiedlich gefärbt und/oder mit verschiedenen Biomolekülen beladen sind, ist nicht auf die Anwendung in Array-Systemen beschränkt, ist jedoch dort besonders sinnvoll durchzuführen.

Als Probenmaterial für alle diagnostischen Testverfahren können alle Körperflüssigkeiten eingesetzt werden. Bevorzugt werden Vollblut, Serum, Plasma, Urin, Schweiß oder Speichel eingesetzt.

5 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der Konjugate aus den erfindungsgemäßen Metalloxid-Partikeln und Biomolekülen in einem diagnostischen, bevorzugt immunologischen Verfahren zum Nachweis eines Analyten in einer Probe.

10 Ebenfalls ein Gegenstand der Erfindung ist ein diagnostisches Reagenz, das die erfindungsgemäßen Konjugate enthält. Das Reagenz kann außerdem die dem Fachmann geläufigen Pufferzusätze, Salze oder Detergenzien enthalten.

Ein Testkit, in dem die erfindungsgemäßen Konjugate und weitere für die Durchführung eines Tests üblichen, dem Fachmann bekannten Reagenzien, enthalten sind, gehört ebenfalls zu den bevorzugten Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung.

15 Viele wichtige Insektizide sind stark halogen-haltig. Diese Insektizide stellen bevorzugte Zielmoleküle für das erfindungsgemäße Verfahren zur nicht-kovalenten Einlagerung in Metalloxid-Partikel insbesondere Silikatpartikel dar.

20 Der Verdauungstrakt von Insekten, insbesondere von Insektenlarven unterscheidet sich fundamental von dem der Säugetiere. Während im Magen der Säugetiere ein stark saurer pH-Wert herrscht, erfolgt der Nahrungsaufschluss im Verdauungstrakt der Insektenlarven in stark alkalischen pH-Bereich.

25 Metalloxid-Partikel, insbesondere auf Silikatbasis oder Mischoxid-Partikel mit mehr als 20% Silikatanteil haben die spezielle Eigenschaft, dass sie unter den alkalischen pH-Bedingungen, wie sie z.B. im Verdauungstrakt der Insekten vorliegen, aufquellen und nicht kovalent eingelagerte Inhaltsstoffe, insbesondere polyhalogenierte Insektizide, abgeben. Da in den erfindungsgemäßen Partikeln die insektiziden Zielmoleküle nicht kovalent gebunden sind, werden sie im Insektendarm, also genau am angestrebten Wirkort freigesetzt und wirksam.

Der Einschluss der insektiziden Wirkstoffe in Metalloxid-Partikel gemäß dem Sol-Gel-Verfahren der vorliegenden Erfindung bewirkt zudem, dass die Wirkstoffe z.B. vor Wasser geschützt sind. Die insektizide Wirkung tritt erst nach der Nahrungs-aufnahme durch das Insekt ein. Insektizide enthaltende erfindungsgemäße Sol-Gel-Partikel mit eingelagertem insektizidem Wirkstoff sind weniger giftig und/oder besser umweltverträglich, als die freien Wirkstoffe.

Halogen-haltige Farbstoffe, mit für die Druckindustrie wichtigen spektralen Eigen-schaften, können in erfindungsgemäßen Verfahren in Sol-Gel-Partikel einge-schlossen werden. Solche Partikel finden insbesondere als Beimischung in soge-nannten Tonern Verwendung.

Unter den halogen-haltigen Substanzen, welche sich erfindungsgemäß in Metall-oxid-Partikel einlagern lassen sind viele Substanzen zu finden, welche schädliches UV-Licht aufnehmen und unterdrücken oder als längerwelliges weniger schädliches Licht wieder abgeben. Erfindungsgemäße Metalloxid-Partikel, welche solche Sub-stanzen enthalten, werden bevorzugterweise in der Kosmetikindustrie, insbeson-dere als Sonnenschutzmittel verwendet.

Die folgenden Beispiele, Publikationen und die Abbildungen erläutern die Erfin-dung, deren Schutzmfang sich aus den Patentansprüchen ergibt, weiter. Die beschriebenen Verfahren sind als Beispiele zu verstehen, die auch noch nach Modi-fikationen den Gegenstand der Erfindung beschreiben.

#### Beschreibung der Figuren

Fig. 1: Schematische Darstellung von homogenen (Typ 1) bzw. heterogenen (Kern-Schale (Typ 2), Rosinenkuchen-Modell (Typ 3) Partikel mit anorganisch-oxidischer Matrix.

Fig. 2: Strukturformel des Tris-[4,4,4-Trifluoro-1-(2-naphthyl)-1,3-butandion]-Eu(III)-Komplex (Eu(NTA)3-Komplex).

Fig. 3: UV-Vis-Spektrum des Eu(NTA)3-Komplexes in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH (1:1)  $\lambda_{\text{Abs.}} = 333 \text{ nm}$

Fig. 4: Fluoreszenzspektrum des Eu(NTA)3-Komplexes in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH (1:1).  
 λ<sub>Exc.</sub> = 333 nm.

Zuordnung der Fluoreszenzbanden zu den spektralen Übergängen

Emissionsbanden      Zuordnung\*

-	λ <sub>Em</sub> = 578 nm	<sup>5</sup> D <sub>0</sub> → <sup>7</sup> F <sub>0</sub>
-	λ <sub>Em</sub> = 590 nm	<sup>5</sup> D <sub>0</sub> → <sup>7</sup> F <sub>1</sub>
-	λ <sub>Em</sub> = 612 nm	<sup>5</sup> D <sub>0</sub> → <sup>7</sup> F <sub>2</sub>
-	λ <sub>Em</sub> = 651 nm	<sup>5</sup> D <sub>0</sub> → <sup>7</sup> F <sub>3</sub>
-	λ <sub>Em</sub> = 699 nm	<sup>5</sup> D <sub>0</sub> → <sup>7</sup> F <sub>4</sub>

10      \*Lit.: R. Reisfeld et al., J. of Alloys and Compounds 300-301 (2000), 147-151.

Fig. 5: Vermessung einer Feststoffprobe der Eu(NTA)3-Komplex enthaltenden Silikatpartikel, welche auf einem Objektträger fixiert wurde.

Einstellungen:

Leistung = 950 mV, Spaltweiten = EX/EM=10/1

15      Lichtquelle = Xenonlampe

λ<sub>Exc.</sub> = 333 nm

λ<sub>Em</sub> = 613 nm

Fig. 6: IR-Spektrum der mit Eu(NTA)3-Komplex dotierten Silikatpartikel an einem KBr-Preßling

20      Zuordnung der Banden

ν(O-H) = 3430 cm<sup>-1</sup>

δ(H<sub>2</sub>O) = 1640 cm<sup>-1</sup>

ν(Si-O-Si) = 1100 cm<sup>-1</sup> (as)

ν(Si-O-Si) = 800 cm<sup>-1</sup> (sym)

25      δ(Si-O-Si) = 471 cm<sup>-1</sup> (?)

Zuordnung nach: Fendler, J.H., Nanoparticles and Nanostructured Films, Wiley-VCH 1998, 180-183.

Fig. 7: Raman-Spektrum einer Feststoffprobe mit Eu(NTA)3-Komplex dotierten Silikatpartikeln

Zuordnung der Banden:

$\nu$ (C-H,aliph.) = 2943, 2875  $\text{cm}^{-1}$  (as)

5  $\delta$ (CH<sub>3</sub>,CH<sub>2</sub>) = 1452  $\text{cm}^{-1}$

$\nu$ (Si-O-Si) = 1068  $\text{cm}^{-1}$  (as)

$\nu$ (Si-O-Si) = 839, 793  $\text{cm}^{-1}$  (sym)

$\delta$ (Si-O-Si) = 482  $\text{cm}^{-1}$

Zuordnung nach: J. H. Fendler, *supra*.

10 Fig. 8: TEM-Aufnahmen an 130-158nm großen mit 4.9 $\mu\text{mol}$  Eu(NTA)3-Komplex je g SiO<sub>2</sub> dotierten Silikatpartikel bei 6300-facher (Fig. 8 links) bzw. 63000-facher Vergrößerung (Fig. 8 rechts)

Fig. 9: VACP/MAS <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum des Eu(NTA)3-Komplexes.

15 Interpretation:

129.4 / 126.7 ppm; arom. C-H

61.2 ppm; CH<sub>2</sub>-OH

27.6 ppm; CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>

17.4 ppm; CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-OH

4.5 ppm; Si- CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>

20 Fig. 10: MAS <sup>29</sup>Si-Festkörper-NMR Spektrum von Silikatpartikeln, welche mit Eu(NTA)3-Komplex dotiert sind.

Die Integration der Signale ergibt untenstehende Verteilung:

110.7 ppm; Q<sub>4</sub> -Gruppen, 70.54 %

101.1 ppm: Q<sub>3</sub> -Gruppen, 27.24 %

25 91.0 ppm: Q<sub>2</sub> -Gruppen, 2.21 %

Verwendete Abkürzungen

	AMEO	3-Aminopropyltriethoxysilan
	<Dig>	anti-Digoxigenin
	ETEO	Ethyltriethoxysilan
5	GF20	2(3-Triethoxysilylpropyl)-Bernsteinsäureanhydrid
	GLYMO	Glycidoxypropyltrimethoxysilan
	Ig	Imunglobulin
	LCR	LightCycler Red
	MAK	Monoklonaler Antikörper
10	MEMO	Methacryloxypropyltrimethoxysilan
	MES	2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure
	MPTMO	3-Mercaptopropyltrimethoxysilan
	RPLA	Rinderplasmaalbumin
	SA	Streptavidin
15	Si-NP	Silicat-Nanopartikel
	TEOS	Tetraethoxysilan
	TMES	Tetramethoxysilan

20 Beispiel 1:

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von Lanthanid (III) -tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphtoyl)-1,3-butandion-Komplexen

800 mg (3 mmol) 4,4,4-Trifluoro-1-(2-naphtoyl)-1,3-butandion wurden in 15 ml Ethanol gelöst. Anschließend wurden zu dieser Lösung 3 ml einer 1 M NaOH-Lösung gegeben. In einem Tropftrichter wurden 1 mmol Lanthan (III)-chlorid bzw. -nitrat in 5 ml Wasser gelöst und dann langsam zur Reaktionslösung zugetropft. Danach wurden weitere 100 ml Wasser zur Reaktionsmischung gegeben und diese für eine Stunde bei 65°C gerührt. Das Produkt wurde als blassgelber Feststoff abfiltriert und drei mal mit je 5 ml Wasser und Ethanol gewaschen. Abschließend wurde es für 3 Stunden bei 120°C im Trockenschrank getrocknet.

Dieses allgemeinen Verfahren wurde zur Darstellung von Terbium (III)-, Gadolinium(III)-, Dysprosium(III)- sowie Erbium (III)-Komplexen verwendet.

**Beispiel 2:**

Übersicht zum physikalischen Farbstoffeinbau in fluorfreie ("normale") Silicat-Nano-Partikel (Si-NP) und organofluormodifizierte ("fluorierte") Si-NP

5      **2.1 Darstellung von LightCycler Red 640™ gefärbten normalen Silikatpartikeln (Referenzpartikel)**

10     41 mg ( $4.29 \times 10^{-5}$  mol) LightCycler Red 640™ LCR 640 wurden in 330 ml 99 %igem Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung wurden 168 ml demineralisiertes Wasser sowie 11 ml einer 14 molaren Ammoniumhydroxydlösung gegeben. Die Lösung wurde auf 35 °C temperiert. Nachdem sich ein thermisches Gleichgewicht eingestellt hat, wurden unter starkem Rühren 24 ml (107 mmol) Tetraethoxysilan (TEOS) zugegeben. Nach 24 h war die Reaktion vollständig abgeschlossen. Man erhält eine farbige Dispersion mit einem Feststoffgehalt von ca. 2 Gewichts-%. Die Partikel besitzen eine Größe von ca. 135 nm Durchmesser. Diese Partikel wurden durch dreimaliges Abzentrifugieren und Redispergieren in frischem Ethanol von nicht eingebautem Farbstoff gereinigt.

15

2.2 Darstellung von LightCycler Red 640™ gefärbten fluorierten Silikatpartikel

a) Vorschrift für Partikel mit 0.3% Fluoralkylsilangehalt

20     Zu einer auf 35 °C temperierten Lösung aus 165 ml EtOH, 84 ml H<sub>2</sub>O und 5.5 ml NH<sub>4</sub>OH wurden 23.8 µmol LightCycler Red 640™, dann 6 ml TEOS und 30 µl (155 µmol) 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan gegeben (eingesetztes Verhältnis von LCR 640: Fluoralkylsilan = 1 : 7). Nach 5 minütigem Rühren wurden die restlichen 6 ml TEOS zur Reaktionsmischung gegeben. Die Reaktion wurde nach 8 h abgebrochen und die Partikel durch Zentrifugation abgetrennt. Die Partikel wurden in H<sub>2</sub>O redispergiert und durch mehrfaches Zentrifugieren und Redispergieren gereinigt.

25

b) Vorschrift für Partikel mit 0.2% Fluoralkylsilangehalt

30     Zu einer auf 30 °C temperierten Lösung aus 31 ml EtOH, 20 ml H<sub>2</sub>O und 7 ml NH<sub>4</sub>OH wurden 23.3 µmol LightCycler Red 640™, dann 5 ml TEOS und 20 µl (119 µmol) 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan gegeben (eingesetztes Verhältnis von LCR 640: Fluoralkylsilan = 1 : 5). Nach 5 minütigem Rühren wurden die restli-

chen 5 ml TEOS zur Reaktionsmischung gegeben. Die Reaktion wurde nach 8 h abgebrochen und die Partikel durch Zentrifugation abgetrennt. Die Partikel wurden in H<sub>2</sub>O redispersiert und durch mehrfaches Zentrifugieren und Redispersieren gereinigt.

5       **2.3 Darstellung von Eu(III)-tris-4,4,4-trifluoro-1-(2-naphthyl)-1,3-butandion  
dotierten Silicatpartikeln**

Der Eu(III)-tris-4,4,4-trifluoro-1-(2-naphthyl)-1,3-butandion-Komplex wurde gemäß der Vorschrift von Charles, R.G., und Roedel, E.P., J. Inorg. Nucl. Chem. 29 (1967) 715-723, hergestellt.

10      a)     Gleichzeitige Zugabe von Alkoxid und einer Mischung aus polyhalogeniertem Alkylalkoxysilan und halogen-haltigem Zielmolekül.

Zu einer auf 30°C temperierten Lösung aus 61 ml Wasser, 40 ml Ethanol und 14 ml Ammoniumhydroxidlösung wurden 20 ml TEOS und eine Mischung aus 20 mg Tris-[4,4,4-Trifluoro-1-(2-naphthyl)-1,3-butandion]-Eu(III), 1 ml Dichlormethan und 0.25 ml 3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilan gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 Stunden bei 30°C und weitere 10 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufreinigung wurden die Partikel abzentrifugiert und zunächst in Ethanol und im anschließenden Waschschritt in Wasser redispersiert.

20      Einbaurate (an Komplex): 4.9 µmol/g SiO<sub>2</sub>

berechneter Eu-Gehalt: 0.07%

mittels Röntgen-Fluoreszenz-Analyse (RFA) gefundener Eu-Gehalt: 0.05%

Partikelgröße aus TEM: 130-158 nm

25      b)     Sukzessive Zugabe von Alkoxid und einer Mischung aus polyhalogeniertem Alkylsiden und halogen-haltigem Zielmolekül.

In einem 250 ml Rundkolben wurden 61 ml Wasser und 40 ml Ethanol auf 30°C temperiert. Dann wurden 14 ml Ammoniaklösung und 10 ml TEOS zugegeben. Parallel dazu löst man 19.4 mg (20.4 µmol) Tris-[4,4,4-Trifluoro-1-(2-naphthyl)-1,3-butandion]-Eu(III) in 1 ml Dichlormethan und versetzt die Lösung im Ultraschallbad mit 250 µl Trifluoropropyltrimethoxysilan. Nach 5 Minuten wurde die

Lösung zum Ansatz getropft und für weitere 5 Minuten gerührt. Anschließend wurden nochmals 10 ml TEOS zugegeben und die Reaktionsmischung für 4 Stunden bei 30°C und für weitere 10 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufreinigung findet über mehrere Waschzyklen mit Ethanol und Wasser statt.

5 **2.4 Herstellung des Erbium (III) tris- (2,2'-bipyridyl)-trichlorid-Komplexes**

In 60 ml Methanol wurden 1.1 g (7 mmol) 2,2'-Bipyridin und 250 mg (0.7 mmol) Erbium(III)nitrat (als undefinierter Hydrat-Komplex) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 2h unter starkem Rühren auf 60°C erhitzt. Beim Abkühlen fällt der Komplex als gelbliches Pulver aus.

10 Der Einbau in Silikat-Partikel erfolgte, wie in Beispiel 2.3a beschrieben.

**2.5 Herstellung des Terbium (III) tris- (2,2'-bipyridyl)-trichlorid-Komplexes**

15 In 60 ml Methanol wurden 1.47 g (9.43 mmol) 2,2'-Bipyridin und 250 mg (9.43\* $10^{-4}$  mol) Terbium(III)chlorid Hexahydrat gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 2h unter starkem Rühren auf 60°C erhitzt. Beim Abkühlen fällt der Komplex als gelbliches Pulver aus.

Der Einbau in Silikat-Partikel erfolgte, wie in Beispiel 2.3a beschrieben.

**2.6 Herstellung des Terbium (III) tris-(1,10-phenanthrolin)-trichlorid-Komplexes**

20 In 20 ml Methanol wurden 482 mg (2.67 mmol) 1,10-Phenanthrolin und 250 mg (0.94 mmol) Terbium(III)chlorid Hexahydrat gegeben. Die Lösung wurde bei 60°C für 2h gerührt und anschließend langsam auf Raumtemperatur (über Nacht) abgekühlt. Die so erhaltene gelbe Lösung wurde mit n-Pentan überschichtet. Der Komplex fällt als Pulver aus.

Der Einbau in Silikat-Partikel erfolgte, wie in Beispiel 2.3a beschrieben.

**2.7 Zusammenstellung über das Einbauverhalten verschiedener Farbstoffe in unmodifizierte bzw. halogen-modifizierte Silikatpartikel**

	Einbau in	
Einbau von	normale Si-NP	fluorierte Si-NP
fluorfreien Farbstoffen	⊖ Tb(III)-bipy ⊖ Er(III)-bipy ⊖ Tb(III)-phen	⊖ Tb(III)-bipy ⊖ Tb(III)-phen
fluorierten bzw. halogenierten Farbstoffen	⊖ Eu(NTA) <sub>3</sub> ⊖ LCR 640	⊕ Eu(NTA) <sub>3</sub> ⊕ Er(NTA) <sub>3</sub> ⊕ LCR 640

5 Legende:

⊖ Einbau negativ,  
⊕ Einbau positiv  
bipy =  $\alpha,\alpha'$ -Bispyridin  
phen = 1,10-Phenanthrolin

10

Beispiel 3:

Oberflächenmodifizierung mit GF20 (Vorschrift zur Einführung von Carboxylgruppen)

15 Die in Beispiel 2.1 bzw. 2.2 erhaltene Dispersion sollte einen pH-Wert von 9.0 nicht überschreiten. Gegebenenfalls sind weitere Waschzyklen durchzuführen (abzentrifugieren / redispersieren). Zu der resultierenden ethanolischen Dispersion mit einem Volumen von 250 ml wurden unter starkem Rühren 210  $\mu$ l ( $75.4 \cdot 10^{-5}$  mol) 2-(3-Triethoxsilylpropyl)-Bernsteinsäureanhydrid (GF20) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 15 h bei 40 °C gerührt. Zur Aufreinigung wurden die Partikel abzentrifugiert und in Wasser redispersiert. Dieser Reinigungsschritt wurde  
20

noch zweimal wiederholt. Man erhält eine wässrige Dispersion oberflächenmodifizierter Partikel mit einem Belegungsgrad von ca. 2 CO<sub>2</sub>H-Gruppen / nm<sup>2</sup> Partikeloberfläche.

**Beispiel 4:**

5 Herstellung von Konjugaten aus mit Lightcycler Red 640 gefärbten Silikatpartikeln und Anti-Digoxigenin-Antikörpern (<Dig>-Konjugate)

10 mg Silikatpartikel (0,5 ml 2%-ige Suspension) wurden 30 min. bei 15000 upm zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und das Pellet wurde in 1 ml 2 mM MES-Puffer pH 6.5 resuspendiert. Dieser Waschvorgang wurde noch einmal wiederholt. Anschließend wurden 100 µl 100 mM MES-Puffer pH 6.5, 100 µl 2% (w/v) Sulfo-N-Hydroxysuccinimid (S-NHS; Pierce No. 24510) in MES-Puffer pH 6.5 und 100 µl 0.2% (w/v) 1-Ethyl-3-(3-diamino-propyl) carbodiimid-hydrochlorid (EDC; Pierce No. 22980ZZ) in MES-Puffer pH 6.5 zugegeben. Nach 20 min. Inkubationszeit auf dem Rolleninkubator wurde 30min. bei 15000 upm zentrifugiert und der Überstand abgehoben. Das Pellet wurde in 867 µl 2mM MES-Puffer pH 6.5 redispergiert, 133 µl MAK<Dig>M-IgG-Lösung (monoklonaler Anti-Digoxigenin-IgG-Antikörper aus der Maus; Konzentration = 15mg/ml) wurden zugegeben. Danach wurde 2 h bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Anschließend wurde 1 ml einer 2%igen Lösung von Rinderplasmaalbumin (RPLA) in 5 mM Kaliumphosphatpuffer pH 7.4 zugegeben und weitere 60 min bei RT inkubiert. Die Partikel-Konjugate wurden zentrifugiert, der Überstand wurde abgenommen und das Pellet wurde in 1 ml 5 mM Puffer resuspendiert. Der Kaliumphosphat Waschvorgang wurde zweimal wiederholt und nach dem letzten Zentrifugationsschritt wurden die Partikel in 0.5 ml 2% RPLA in 5 mM Hepes-Puffer pH 7.4 resuspendiert.

**Beispiel 5:**

Anwendung von <Dig>-Silikatpartikelkonjugaten in einem Streifentest

30 Die für die Durchführung der Experimente benötigten Prüferteststreifen bestehen aus einer Kunststofffolie, auf die ein Auftragvlies, eine Membran sowie ein Saugvlies aufgeklebt sind. Auf der Membran sind zwei Proteine auf unterschiedlichen Strichen immobilisiert: Streptavidin bzw. Anti-Maus-IgG Antikörper.

5 Poly-SA wurde auf der Target- oder Resultatlinie, das heißt der ersten Linie in Chromatographierichtung immobilisiert, und soll über die Bindung von Biotin spezifisch an digoxigenyliertes und biotinyliertes Peptid gebundene Partikel abfangen. Die Anti-Maus-IgG Antikörper wurden auf der Kontroll-Linie, das heißt der zweiten Linie in Chromatographierichtung, immobilisiert. Diese Anti-Maus-IgG Antikörper sollen alle überschüssigen, nicht auf der Resultatlinie gebundenen Partikel (Konjugate aus Anti-Digoxigenin-Antikörpern aus der Maus und den Silikatpartikeln) abfangen.

10 Das Auftragvlies wurde je nach Teststreifenvariante mit dem zu untersuchenden Probenmaterial, das heißt mit 1 µg/ml bzw. 0 µg/ml eines biotinylierten und digoxigenylierten Peptids getränkt. Zum Verdünnen der Silikatpartikel bzw. zum Nachwaschen der Teststreifen wurde ein 100mM Hepes-Puffer pH 7.5 (50 mM NaCl, 70 mM Harnstoff, 1 mM EDTA, 2% RPLA) verwendet. Die Silikatpartikel wurden im Hepes-Puffer auf eine Endkonzentration von 100 µg/ml verdünnt.

15 Anschließend wurden 60 µl der beschriebenen Silikatpartikelverdünnung auf das Reagenzvlies pipettiert und 10min. chromatographiert. Danach wurden 40 µl Hepes-Puffer auf das Reagenzvlies pipettiert und weitere 10 min. chromatographiert. Abschließend wurde der Teststreifen ausgewertet. In Abwesenheit des Peptids (=Analyt) war nur die Kontroll-Linie zu erkennen, in Anwesenheit des Peptids wurde zusätzlich die Resultatlinie-Linie sichtbar.

20 Die erfindungsgemäßen Konjugate aus mit halogenhaltigen Farbstoffen gefärbten Silikatpartikeln und Biomolekülen (hier: Anti-Digoxigenin-Antikörpern) sind somit als Nachweisreagenzien in immunologischen Teststreifen geeignet.

Referenzliste

Badley, R.D., et al., *Langmuir* 6 (1990) 792-801

Byers, C. H., et al., *Ind. Eng. Chem. Res.* 26 (1987) 1916-1923

Charles, R.G., und Roedel, E.P., *J. Inorg. Nucl. Chem.* 29 (1967) 715-723

5 EP 1 036 763

Fendler, J.H., *Nanoparticles and Nanostructured Films*, Wiley-VCH 1998, 180-183

Giesche, H., and Matijevic, E., *Dyes and Pigments* 17 (1991) 323-340

Giesche, H., *J. European Ceramic Soc.* 14 (1994) 189-204

Harris, T., et al., *J. Non-Cryst. Solids* 121 (1990) 307-403

10 Horn, D., and Rieger, J., *Angew. Chem.* 113 (2001) 4460-4492

Kawaguchi, H., *Prog. Polym. Sci.* 25 (2000) 1171-1210

Kron, J., et al., 2. Wörlitzer Workshop, Tagungsband 2000

15 Matijevic, et al., *Dyes and Pigments* 17 (1991) 323-340

Matsoukas, T., and Gouliari, E., *Colloid J. Interface Sci.* 124 (1988) 252-261

Matsoukas, T., and Gouliari, E., *Colloid J. Interface Sci.* 132 (1989) 13-21

Philipse, A.P., and Vrij, A., *Colloid J. Interf. Sci.* 12 (1989) 121-136

Quellet, et al., *Colloid J. Interface Sci.* 159 (1993) 150-7

20 Reisfeld, R., et al., *J. of Alloys and Compounds* 300-301 (2000), 147-151

Schwert, R., Dissertation, Würzburg (?)2000

Shibata, S., et al., *J. Sol-Gel Sci. and Techn.* 10 (1997) 263-268

25 Stöber, et al., *Colloid J. Interface Sci.* 26 (1968) 62-69

US 5,102,763

US 5,209,998

Van Blaaderen, A., and Vrij, A., *Adv. Chem. Ser.* 234 (1994) 83-111

Van Blaaderen, A., and Vrij, A., *Colloid J. Interface Sci.*, 156 (1993) 1-18

Van Blaaderen, et al., *Langmuir* 8 (1992) 2921-2931

Van Helden, A.K., and Vrij, A., *Colloid J. Interf. Sci.* 81 (1981) 354-368

Verhaegh, and Van Blaaderen, A., *Langmuir* 10 (1994) 1427-1438

WO 93/10190

## Patentansprüche

1. Sol-Gel-Verfahren zur Herstellung eines mindestens ein halogen-haltiges Zielmolekül enthaltenden Metalloxid-Partikels, in welchem ausgehend von bekannten Metalloxid-Vorstufen, besagte Vorstufe und besagtes Zielmolekül eingesetzt werden dadurch gekennzeichnet, dass in besagtem Sol-Gel-Verfahren zusätzlich eine polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung eingesetzt wird.
2. Sol-Gel-Verfahren zur Herstellung eines mindestens ein halogen-haltiges Zielmolekül enthaltenden Metalloxid-Partikels gemäß Anspruch 1, enthaltend die Stufen
  - a) Herstellung einer Mischung enthaltend das Zielmolekül und eine polyhalogenierte Metallalkylalkoxy-Verbindung,
  - b) Start des Sol-Gel-Prozesses mit der Metalloxid-Vorstufe,
  - c) Zugabe der Lösung aus a),
  - d) optional weitere Zugabe der Metalloxid-Vorstufe und
  - e) Beendigung des Sol-Gel-Prozesses
3. Verfahren gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) 90 bis 10% der Metallalkoxid-Vorstufe und in Schritt d) 10 bis 90% der Metalloxid-Vorstufe eingesetzt werden.
4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass bezogen auf die Ausgangsmenge an Metalloxid-Vorstufe zwischen 0,04 und 0,4 Mol-% an polyhalogenierter Metallalkylalkoxy-Verbindung eingesetzt werden.
5. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass bezogen auf die Ausgangsmenge an Metalloxid-Vorstufe zwischen 0,1 und 10 Gew.-% an Zielmolekül eingesetzt werden.
6. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das halogen-haltige Zielmolekül chloriert oder fluoriert ist.

7. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Metalloxid aus  $B_2O_3$ ,  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $ZrO_2$  oder  $TiO_2$  oder aus Mischoxiden daraus besteht.
8. Metalloxid-Partikel erhältlich nach dem Sol-Gel-Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7.
9. Verwendung eines Partikels gemäß Anspruch 8 als Markierung für Biomoleküle.
10. Verwendung eines Partikels gemäß Anspruch 8 als Sonnenschutzmittel .
11. Verwendung eines Partikels gemäß Anspruch 8 als Toner.
- 10 12. Verwendung eines Partikels gemäß Anspruch 8 als Insektizid.

Fig. 1

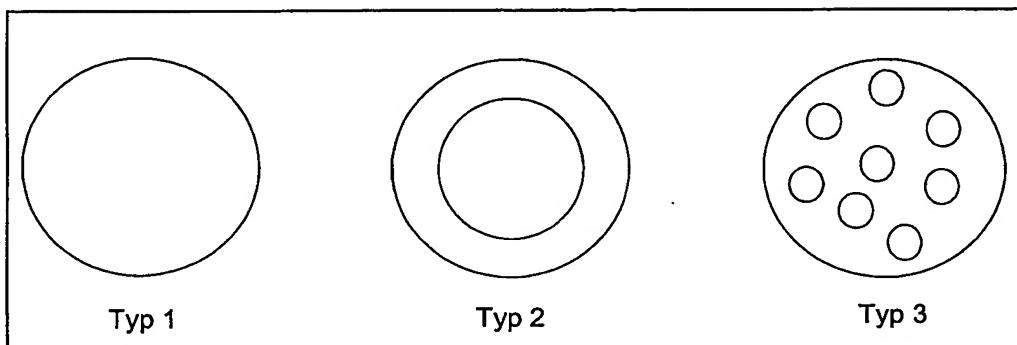


Fig. 2

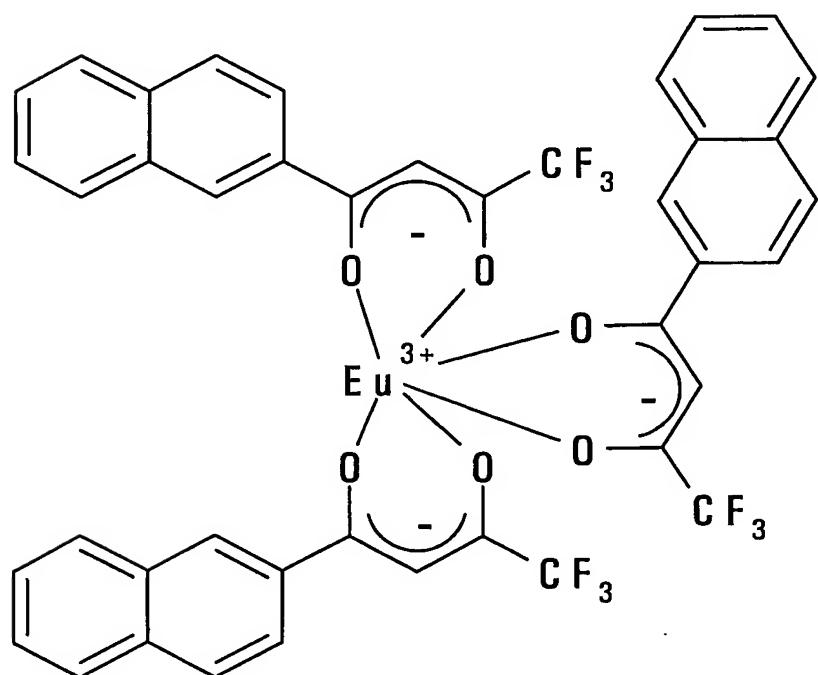


Fig. 3

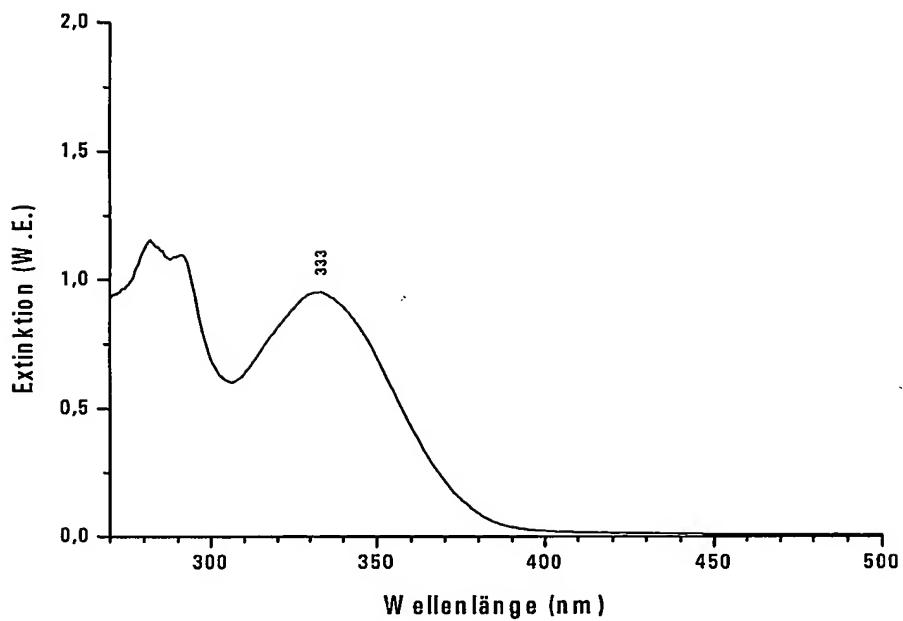


Fig. 4

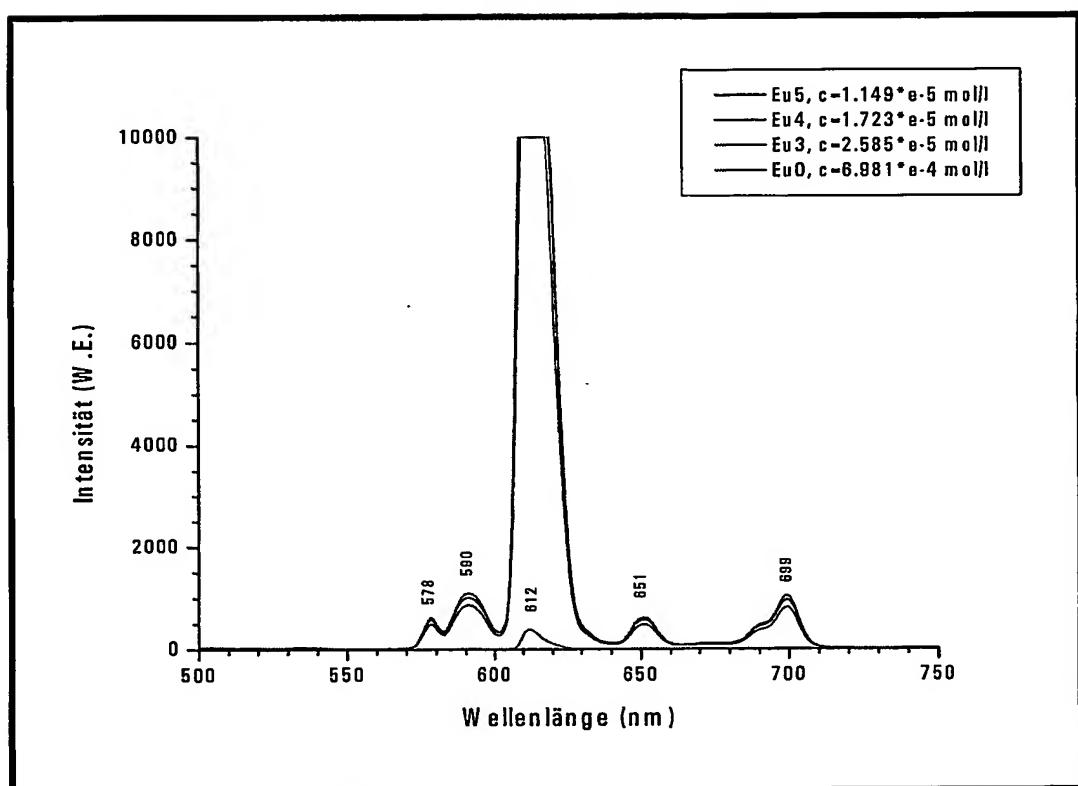


Fig. 5

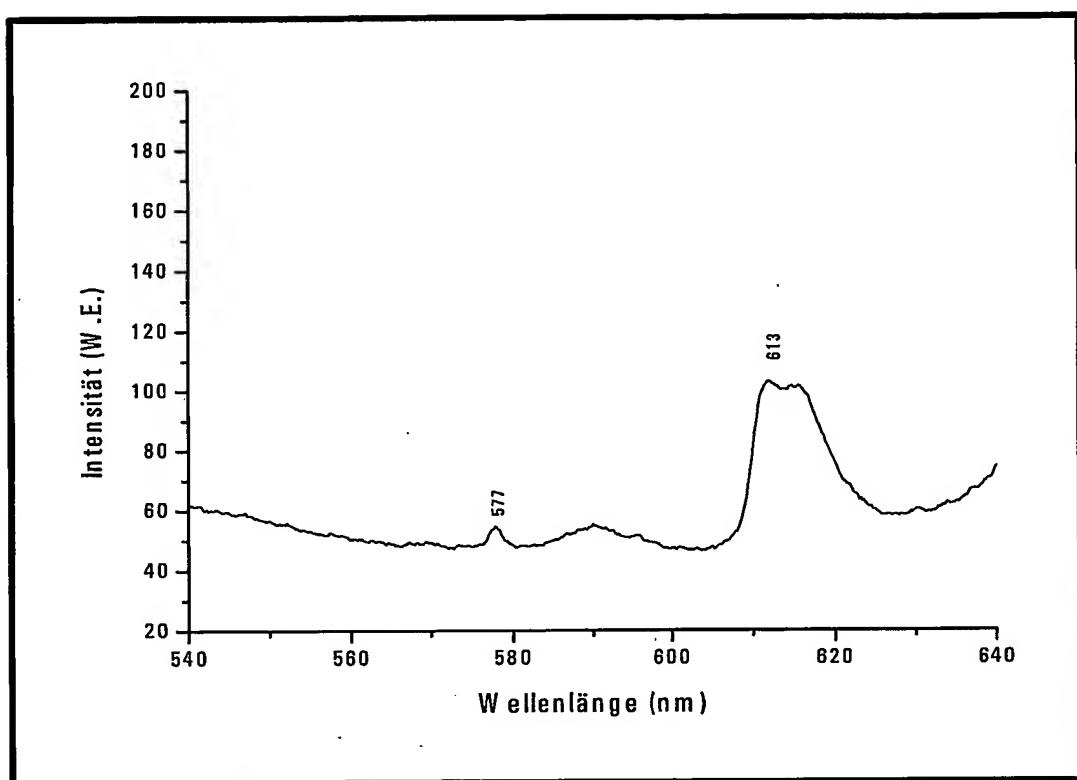


Fig. 6

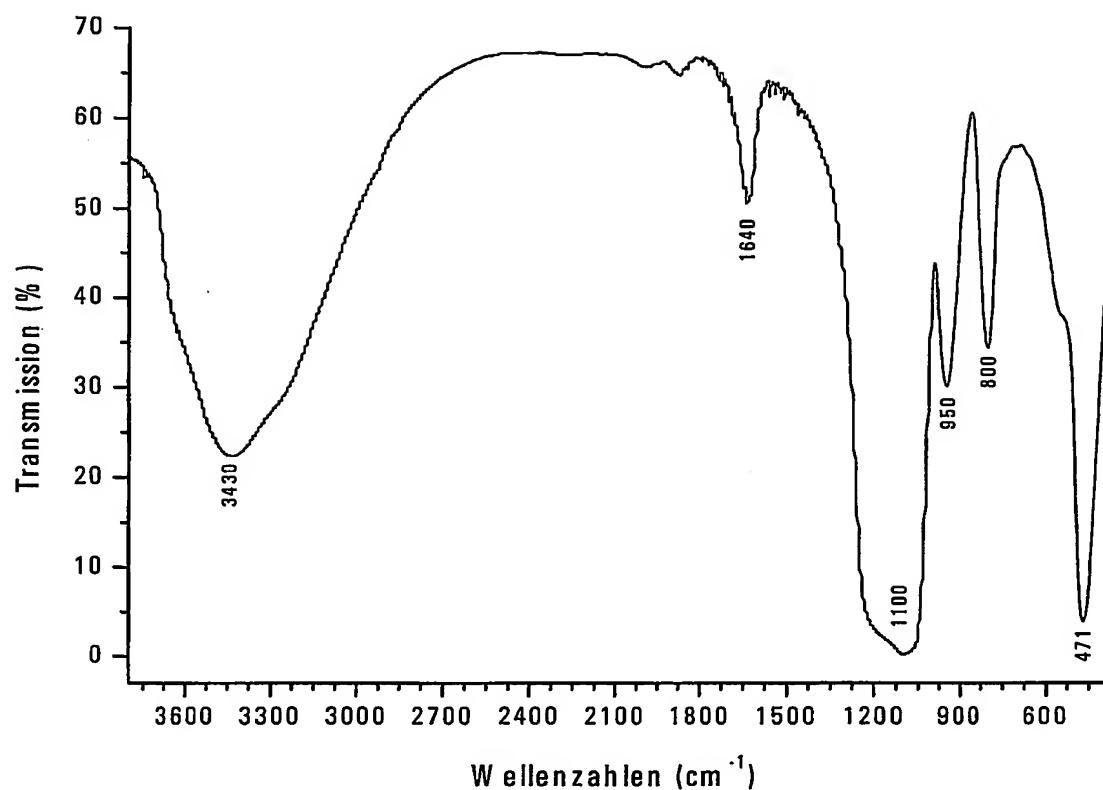


Fig. 7

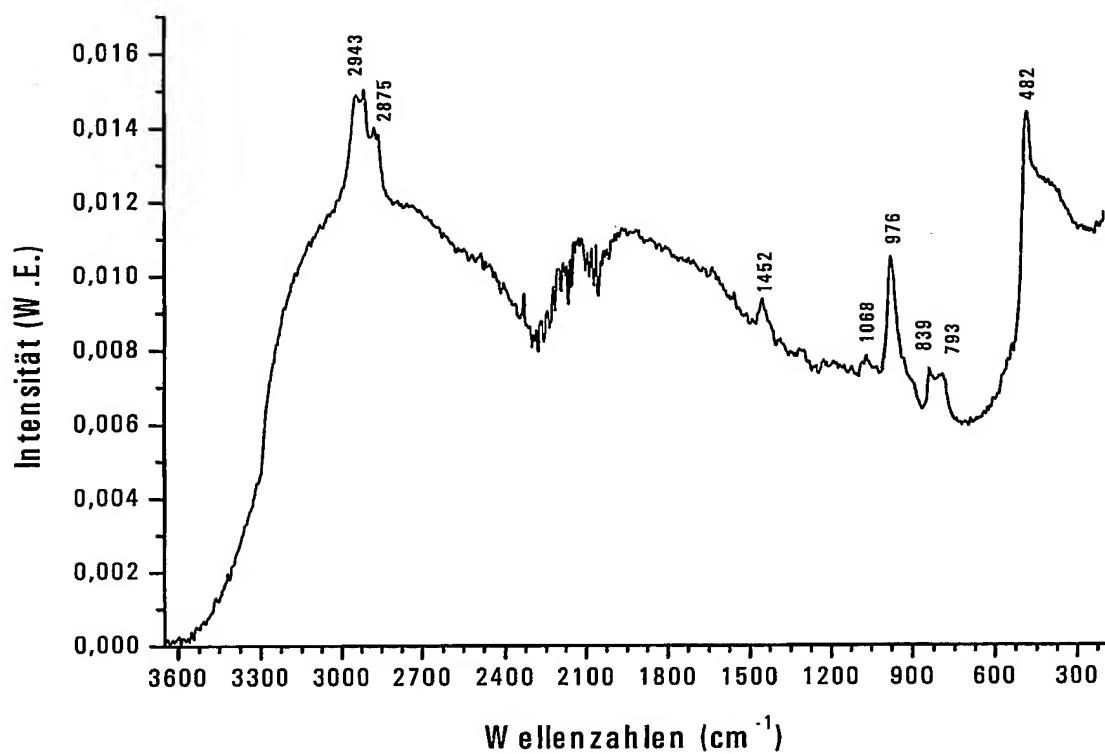


Fig. 8

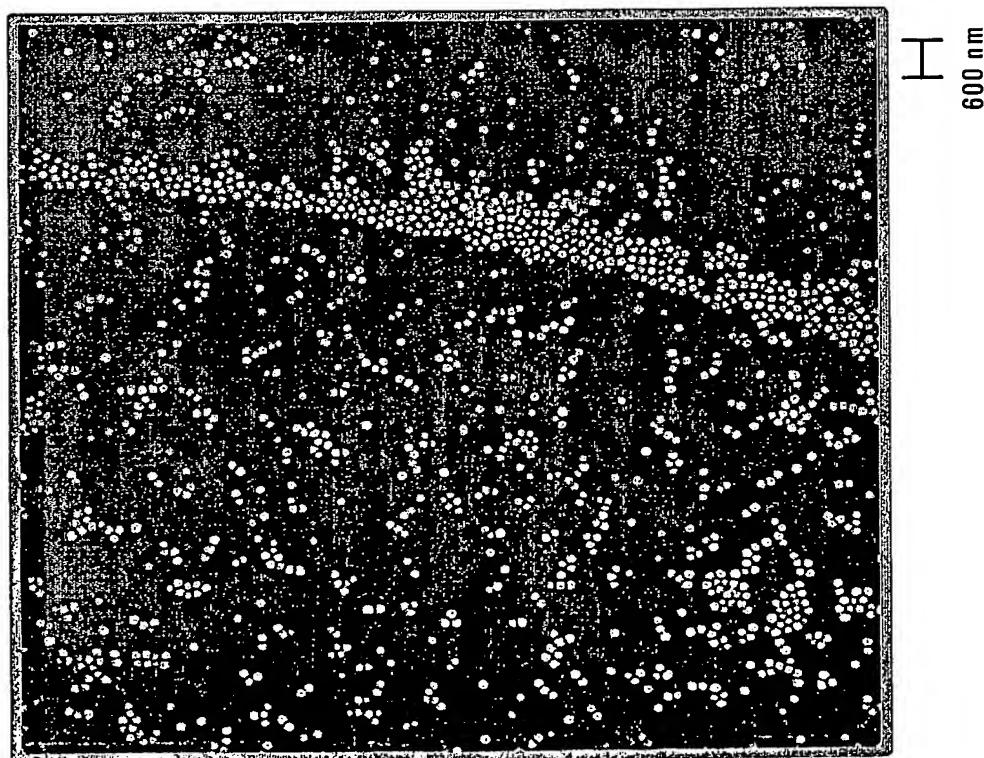
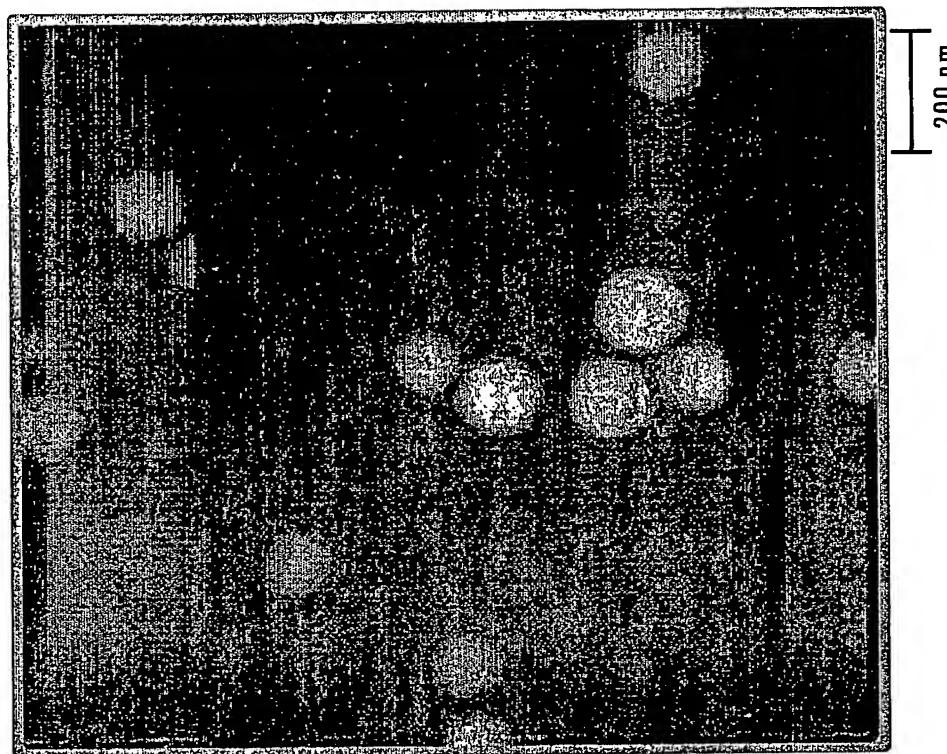


Fig. 9

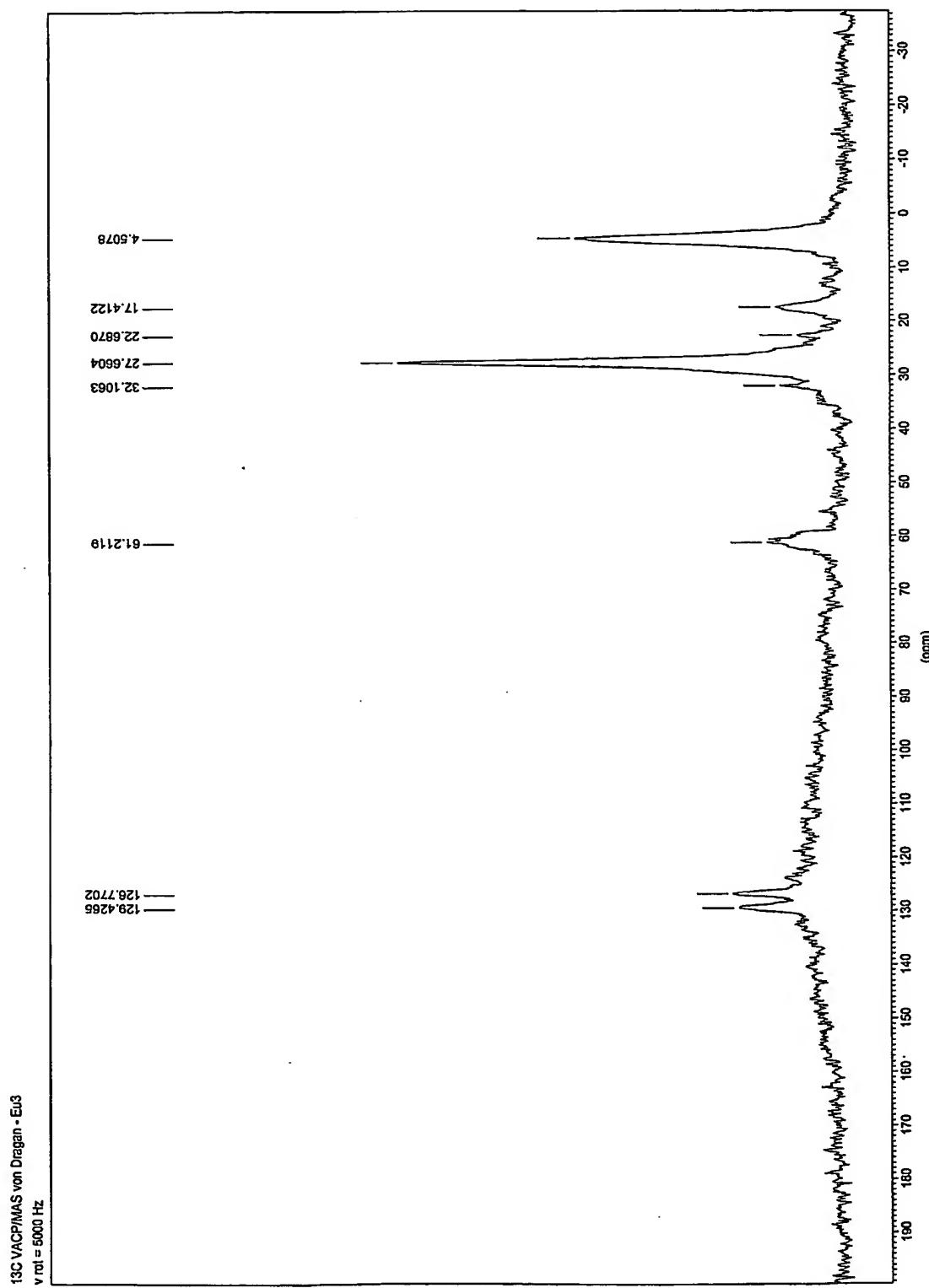
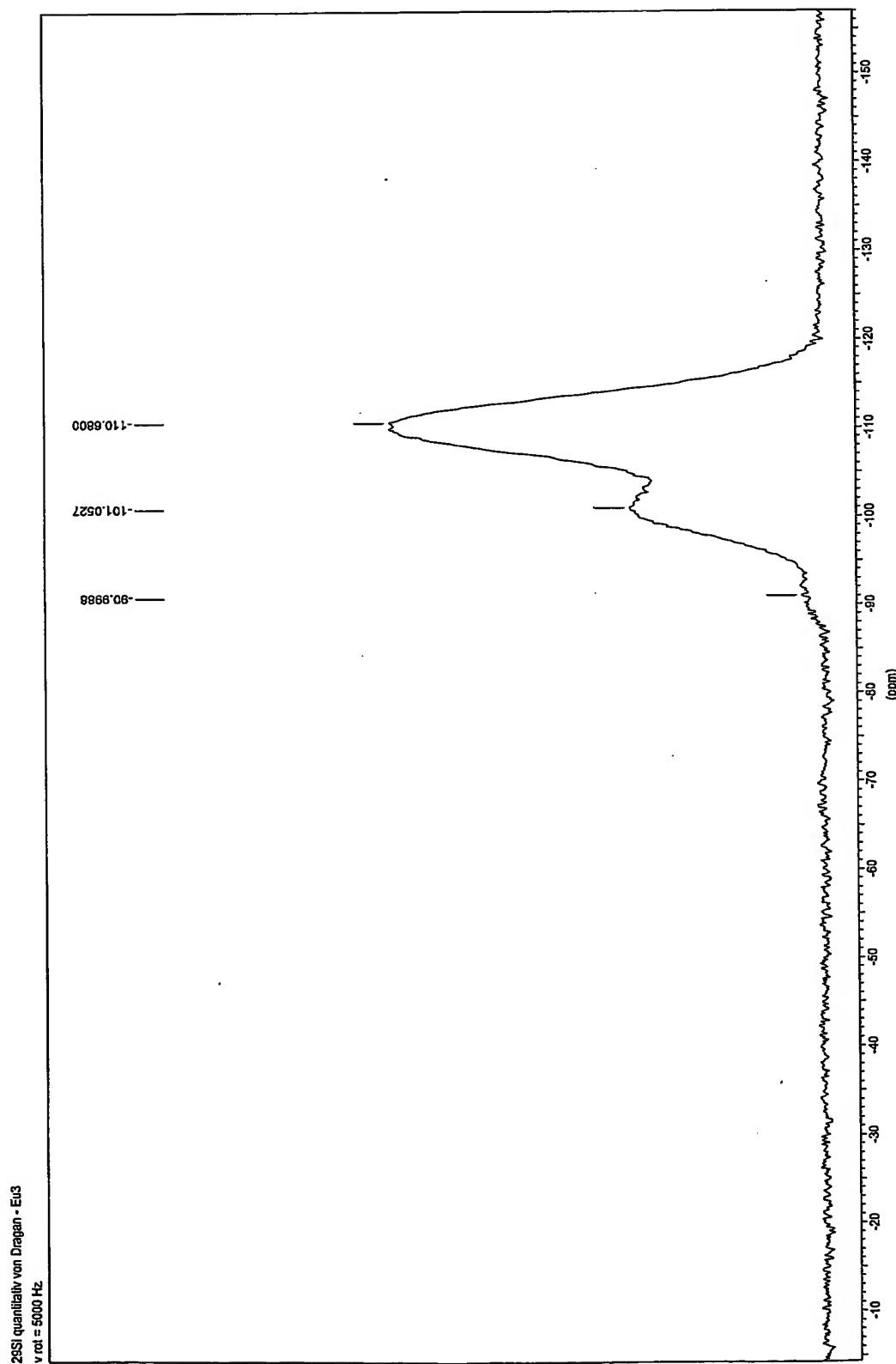


Fig. 10



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/02198

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C01B33/14 C09C1/28 C09C3/00 C01B13/32 C01B33/113

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C01B C09C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category <sup>o</sup>	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	DE 101 63 646 A (HERMSDORFER INST FUER TECH KER) 3 July 2003 (2003-07-03) column 6, line 2, paragraph 31 - line 35 -----	1-7
P, X	US 2003/032681 A1 (POCO JOHN F ET AL) 13 February 2003 (2003-02-13) page 2, paragraph 19 - paragraph 27; example 2 -----	1-7

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the International filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

6 August 2003

Date of mailing of the International search report

13/08/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Siebel, E

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2003/02198

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10163646	A 03-07-2003	DE 10163646 A1	03-07-2003
US 2003032681	A1 13-02-2003	NONE	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

onales Aktenzeichen  
PCT/ [REDACTED] 3/02198

A. Klassifizierung des Anmeldungsgegenstandes  
IPK 7 C01B33/14 C09C1/28 C09C3/00 C01B13/32 C01B33/113

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBiete

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 C01B C09C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
E	DE 101 63 646 A (HERMSDORFER INST FUER TECH KER) 3. Juli 2003 (2003-07-03) Spalte 6, Zeile 2, Absatz 31 - Zeile 35	1-7
P, X	US 2003/032681 A1 (POCO JOHN F ET AL) 13. Februar 2003 (2003-02-13) Seite 2, Absatz 19 - Absatz 27; Beispiel 2	1-7

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

6. August 2003

13/08/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Siebel, E

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur gleichen Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/02198

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 10163646	A 03-07-2003	DE 10163646 A1	03-07-2003
US 2003032681	A1 13-02-2003	KEINE	